Zum Mechanismus der fermentativen Zonolyse

von

Gisela Meythaler

aus Erlangen

1962 № 68

Aus der Augenklinik der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. med. E. Schreck

Zum Mechanismus der fermentativen Zonolyse

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu

E r l a n g e n

Vorgelegt von

Gisela M e y t h a l e r

aus Erlangen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Professor Dr. med. G. Hegemann
Referent: Professor Dr. med. E. Schreck
Tag d.mündl.Prüfung: 16. 7. 1962

Einleitung.

Die ersten Berichte über die operative Entfernung einer getrübten Linse im menschlichen Auge reichten bis in die Zeit der biblischen Patriarchen zurück.

Die B a b y l o n i e r und A s s y r e r übten um 2000 v.Chr. die Staroperation schon aus; sie bestand in der Reklination der Linse mit einer Bronzenadel: "Wenn ein Arzt einem freien Manne mit der Nadel aus Bronze hat behandelt, hat geöffnet und das Auge des Mannes hat zerstört, seine Hände wird man abhauen."

Die Ä g y p t e r , G r i e c h e n , R ö m e r und besonders die A r a b e r besaßen Kenntnisse über die Staroperation.
Ein arabischer Text lautet in wörtlicher Übersetzung folgendermaßen: Galenos, "im ärztlichen Zimmer":
"Siehe der Operierende muß festhalten den Star unter der Nadel eine Zeitlang an der Stelle, an welcher er ihn niederdrücken will, bis er festklebt an dieser Stelle."

Komplikationen traten bei diesem Verfahren sehr häufig auf. Die A r a b e r haben, nachdem sie dieses Verfahren weiter ausarbeiteten, eine Radikaloperation des Stares durch Aussaugung erfunden, und zwar wandten sie diese Methode bei Leuten an, die nicht "auf dem Rücken" liegen konnten. In Europa wurde diese Methode verworfen.
Die Aussaugung wurde mit einer Hohlnadel durchgeführt. Die

Reklination der Linse übte man bis ins 18. Jahrhundert und vereinzelt noch später aus.

Den Weg zur extracapsulären Methode bahnte M i c h e l B r i s s e a u (1676-1743). Er fand bei der Sektion eines Bulbus mit grauem Star, daß die Ursache der Erkrankung die getrübte Linse darstellt.

40 Jahre später veröffentlichte J a c q u e s D a v i e l (1696-1762) sein Hauptwerk "Über die Starausziehung". Hierbei beschreibt er die extracapsuläre Ausziehung der Linse. Er stellte einen Rückgang der durch die Verlagerungsmethode zu erwartenden Komplikationen fest und operierte nur noch nach dem von ihm entdeckten Verfahren. Daviel beschrieb dann auch die intracapsuläre Methode.

1753 beschreibt L a F a v e die Expression der Linse, die bei mäßigem Druck ausgeführt werden soll. Die Ergebnisse der beschriebenen Verfahren wurden sehr stark durch die häufig auftretenden Infektionen getrübt; um diese zu verhindern, strebte man eine möglichst rasche Entfernung der Linse an.

Erst durch die Einführung der Sterilisation, der Händedesinfektion und nach der Entdeckung der Sulfonamide und Antibiotika zeigten sich gleichbleibend gute Erfolge.

Eine Erleichterung der intracapsulären Kataraktextraktion brachte eine zufällige Beobachtung von B a r r a q u e r (1957); bei der Behandlung einer schweren Glaskörperblutung

mit intraoculärer α-Chymotrypsininjektion trat eine Luxation der Linse auf. Er nahm an, daß das Ferment die Zonulafasern auflöse. Diese Beobachtung wurde dann von ihm zur Unterstützung der intracapsulären Kataraktextraktion verwertet und als enzymatische Zonulolyse propagiert. Sie fand vielfache Bestätigung: Remky (1958), E. Walser (1958), J. Fuchs (1959), O. Liegl (1959), W. Rohrschneider (1959), Zorab (1959), J.E.H. Cogan, H.M. Symons und D.C. Getsbs (1959), L. Casero (1959/60), Ferraris De Gaspare und M. Massin (1960), Desvignes (1960) K. Hruby (1959), F. Lembeck und H. Hofmann (1959) u.a.

So wird heute die Anwendung von proteolytischen Fermenten, vor allem von α-Chymotrypsin und Trypsin, bei der Staroperation von Patienten im Alter von 20-60 Jahren gegenüber früher als eine Bereicherung empfunden, da die intracapsuläre Extraktion hiermit leichter gelingt.
Inzwischen erscheinen auch die diesem Verfahren anhaftenden Nachteile nicht ganz unbedenklich (Fanta, Rohrschneider u.a.).
Während sich die klinische Anwendung heute gut umreißen läßt, so liegen unsere theoretischen Vorstellungen hierin noch im Ungewissen.

So konnte trotz vielfältiger experimenteller Bemühungen der Wirkungsmechanismus bisher in seinen wesentlichen Punkten kaum eine Klärung finden.

Berücksichtigt wurde die Abhängigkeit des Fermentes von der Temperatur (optimal: Körpertemperatur), vom pH-Wert (optimal: etwa 7,2) und von der Konzentration (optimal: 1:5000). Auffälligerweise gelangen die Versuche nur bei gespannter Zonula Zinni. F. L e m b e c k und H. H o f m a n n beschrieben ihre Ergebnisse mit und ohne Zug an den Zonulafasern. Sie unternahmen Experimente, bei denen die Zugwirkung und die Trypsinwirkung gleichzeitig eintreten und solche, wo die Zugwirkung erst lange nach der Einwirkung von Trypsin einsetzt.

A. P r o b s t und H. H o f m a n n sprachen auf Grund der oben beschriebenen Versuche und elektronenoptischer Bearbeitung die Vermutung aus, daß molekulare Strukturveränderungen durch die Spannung der Zonula Zinni hervorgerufen werden, die eine Voraussetzung zum Wirksamwerden der tryptischen Fermente darstellen.

Uns stellt sich hierbei die Frage:

1. ob eine dauernde Anspannung der Zonula Zinni zum Wirkungsmechanismus der zonolyschen Fermente notwendig ist und
2. ob die die Aufhängefasern der Zonula Zinni umgebende "Grundsubstanz" hierbei bedeutungslos ist.

Zur Klärung der letzten Problemstellung verwandten wir einen Ionenaustauscher, der auf Grund unserer Vorstellung bei der Einzelzelldarstellung für Gewebekulturen eine gewisse Klärung zu geben vermag. Der Ionenaustauscher ist das Na-Salz des Äthylendiamintetraacetat-das EDTA- im Handel als Versenat bekannt.

Methodik:

Apparatur:

Wir haben ein Glasrohr mit 5 cm Durchmesser an einem Ende mit einem dünnen, elastischen und standardisierten Gummi verschlossen. Die Gummimembran war so beschaffen, daß sie durch leichten Druck von oben eine entsprechend große Mulde zu bilden vermag. Diese mußte notwendig sein, um den Bulbus aufzunehmen. Das Glasrohr stand mit einem Rezipienten in Verbindung, mit dessen Hilfe verschiedene standardisierte Drucke eingestellt werden konnten. Er wurde durch ein Wassermanometer im Seitenschluß abgelesen. Wir wählten einen Druck von 24 cm H_2O. Als Maßstab der zonolytischen Wirkung diente die Zeit, die ein Enzym benötigte, um die Zonula Zinni von ihrem Aufhängeapparat zu befreien. Die Zeit maßen wir mit einer Stoppuhr.

Material und Durchführung:

Wir benutzten frische Rinderaugen, die wir jeweils möglichst kurz nach dem Töten der Tiere abholten und dann sofort für die Versuche gebrauchten. Die Rinderaugen wurden von Muskulatur und Bindegewebe frei präpariert, die Cornea kreisförmig abgetragen, nachdem wir mit Hilfe einer Stanze (Durchmesser: 27 mm) den abzutragenden Bereich vorher markiert hatten. Die Iris entfernten wir möglichst nahe ihrer Wurzel, ohne den Aufhängeapparat der Linse zu beschädigen. In die Gummimulde wurde zur besseren Lage des Bulbus Watte eingelegt und dann das Auge vorsichtig so manipuliert, daß es nicht

über den oberen Rand vorragte. Darüber wurde eine Plexiglasplatte mit einem kreisförmigen Loch von 26 mm Durchmesser gelegt und auf den oberen Rand des Glasrohres gepreßt. Durch Erzeugung eines Druckes von 24 cm H_2O wird dann die Linse in die Öffnung der Plexiglasplatte vorgewölbt, die Zonulafasern dabei straff gespannt. Der Bulbus findet hierbei sein Widerlager durch den Skleradruck auf die Plexiglasplatte. Die Versuche werden bei einer Raumtemperatur von 20^{o} durchgeführt.

Somit finden wir uns in der experimentellen Anordnung in weitgehender Übereinstimmung mit der von H. H o f m a n n und F. L e m b e c k .

Insgesamt dienten zur Durchführung der Vorversuche und der Versuche etwa 300 Rinderaugen.

Wir arbeiteten mit Trypsin Difco (300). Die Trypsinlösung, die wir als ungepufferte und gepufferte Lösung anwandten, stellten wir jeweils am gleichen Tag frisch her und filtrierten sie vor Verwendung.

Zur Vermeidung von Fehlern in der absoluten Trypsinkonzentration haben wir die Versuche und auch die Kontrollen am selben Tag mit derselben Trypsinlösung durchgeführt.

Die Trypsin-Pufferlösung haben wir mit einem Phosphat-Puffer hergestellt:
Wir stellten 3 Lösungen her, die wir untereinander mischten.

Solution A:

NaCl	16,0
KCl	0,4
Na_2HPO_4	2,3
KH_2PO_4	0,4
H_2O	ad 1000,0

Solution B:

$CaCl_2$	0,2
H_2O	ad 200,0

Solution C:

$MgCl_2\ H_2O$	0,2
H_2O	200,0

Die Temperatur der gebrauchten Lösungen und die Rinderaugen hielten wir in einem Wasserbad auf Körpertemperatur (37°). Die Trypsinverdünnungen wurden mit einer Pipette so auf die Linse getropft, daß die Zonula vollständig eingetaucht in der Lösung lag.

Sodann prüften wir bei verschiedenen Fermentverdünnungen (1:20 000, 1:2 000 und 1:200), verschiedenem pH (7,2 und 5,5) und konstanten Temperaturbedingungen (37°) die Zeit, die vom Trypsin bei angespannter Zonula Zinni zur vollständigen Zonolyse benötigt wurde (vgl. Tabelle).

Um nachzuweisen, ob eine permanente oder eine einmalige Spannung der Zonula genügt, unternahmen wir zusätzlich folgende Versuche:

Wir setzten die Zonulafasern momentan unter einen Druck von 24 cm H_2O, wobei nach Erreichen dieser Höhe sofort wieder

auf den Nullpunkt zurückgegangen wurde. Nun tropften wir 5' lang Trypsin in einer Verdünnung von 1:2 000 und 1:200 auf und nach Ablauf dieser Zeit setzten wir die Zonulafasern bis zur Zonolyse unter einen Zug von 24 cm H_2O.

Als Kontrollversuche ließen wir 5' lang Trypsin auf die noch nicht vorgespannte Zonula Zinni einwirken und beendeten den Versuch durch dauernde Anspannung der Zonula bis zu deren Einreißen.

Das EDTA verwandten wir in Konzentrationen von 1:5 000 bis zur Zugabe der Substanz als solche. Im übrigen glich der Versuchsablauf dem bei der Anwendung von Trypsin. Außerdem gaben wir nach einer Einwirkungszeit bis zu 5' anschliessend Trypsin hinzu.

Versuchsergebnisse:

A) Trypsin

Zuerst arbeiteten wir mit einer Trypsinverdünnung von 1:20 000. Wir stellten 2 Versuchsreihen an:

1:20 000 mit Phosphat-Puffer:pH 7,2;

1:20 000 mit Aq.dest.: pH 5,5.

Wir unternahmen mit dieser Trypsinverdünnung auf Grund des Ergebnisses keine weiteren Experimente, da uns die zur vollständigen Entwicklung der Linse benötigte Zeit und die Streuung der Werte zu groß erschienen (vgl. Tabelle I:A u.B). Auffällig hierbei war, daß die Mittelwerte beider Ergebnisse übereinstimmten, die mittlere Abweichung vom Mittelwert

bei Anwendung des ungepufferten Trypsins um das Doppelte höher lag als bei Verwendung des Puffersystems.

Deutlich zeigte sich der Unterschied in den Trypsin-Verdünnungsreihen 1:2 000 und 1:200 mit und ohne Puffersystem (vgl. Tabelle I: C und D; I und J). Die Werte sind nach der Fehlerberechnung deutlich signifikant (vgl. Tabelle II). Die Zeit, um eine vollständige Zonolyse zu bewirken, wurde wesentlich durch das gepufferte Trypsin (pH 7,2) verkürzt.

Durch die ganz kurze Anspannung der Zonula Zinni vor Auftropfen der Enzymlösung (in einer Verdünnung von 1:2 000) trat das Abreißen der Zonulafasern im Vergleich zu den Versuchen ohne Vorspannung sehr frühzeitig ein (vgl. Tabelle I: C und E). Die Werte erscheinen wiederum weit außerhalb des Zufallsbereichs.

In einer Verdünnung von 1:200 luxierte sofort die Linse, oft sogar bevor die Spannung den standardisierten Wert erreicht hatte.

Hiermit zeichnet sich deutlich ab, daß eine einmalige Anspannung der Zonula genügt, um das Ferment wirksam werden zu lassen.

	Fermentverdünnung	n	Phosphatpuffer pH 7,2	Aq.dest. pH 5,5	Vorsp.	Wartezeit 5'	Mittelwert $\sigma \pm$
A	1:20 000	6	+	-	-	-	839,2 ± 70,02
B	1:20 000	7	-	+	-	-	891,2 ± 156,51
C	1: 2 000	16	+	-	-	-	99,0 ± 48,87
x D	1: 2 000	25	-	+	-	-	219,3 ± 67,52
E	1: 2 000	10	+	-	+	+	44,0 ± 41,47
F	1: 2 000	10	-	+	+	+	133,2 ± 52,15
x G	1: 2 000	10	+	-	-	+	103,0 ± 46,90
x H	1: 2 000	10	-	+	-	+	154,0 ± 55,29
I	1: 200	9	+	-	-	-	30,2 ± 8,86
J	1: 200	19	-	+	-	-	78,4 ± 19,82
K	1: 200	20	+	-	+	+	0 ± 0
L	1: 200	10	-	+	+	+	0 ± 0
x M	1: 200	17	+	-	-	+	24,0 ± 30,05
x N	1: 200	10	-	+	-	+	40,0 ± 20,51

Tabelle I

n = Anzahl der Versuche; Vorsp. = Vorspannung der Zonula Zinni;
$\sigma \pm$ = mittlere Abweichung vom Mittelwert;
x = Kontrollversuche
Die Temperatur der Fermentverdünnungen betrug bei allen Versuchen 37°.

M ±	G	G-Differenz
A	C	26,8
A	I	35,2
C	I	4,1
C	D	6,1
B	D	17,0
D	F	4,2
D	J	8,7
E	J	3,2
E	F	4,2
E	G	3,1

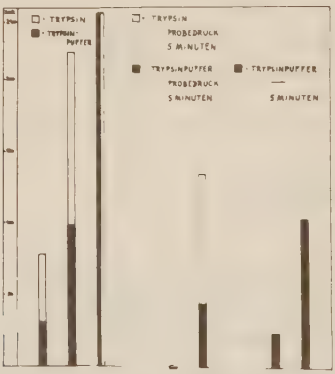
Tabelle II

Mittelwert und mittlere Abweichung sowie Differenz-Berechnung der Versuche mit Trypsin.

Als Kontrollversuche haben wir das Trypsin 5 Minuten ohne kurz dauernde Vorspannung aufgetropft und dann in der typischen Weise durch fortdauernde Anspannung der Zonula beendet.

Die Ergebnisse in einer Verdünnung von 1:2 000 und 1:200 stimmen weitgehend mit den Versuchen überein, die wir durchführten, nämlich gleichzeitig Spannung der Zonula und Enzymeinwirkung.

Die Kontrollversuche zeigen dagegen, daß Trypsin allein keine zonolytische Wirksamkeit entfaltet.



In der Tabelle II haben wir die Signifikanz unserer Versuche nach S. K o l l e r berechnet.

B) EDTA=Na-Salz des Äthylendiamintetraacetat

Überraschenderweise zeigte es sich, daß mit EDTA auch bei Anwendung stärkster Konzentrationen, ja bei Zugabe des Substrates selbst, keine Zonulolyse eintritt.

Auch bei nachfolgender Einwirkung von Trypsin ergab sich keine Abweichung von den normalen Werten, d.h., diese Substanz scheint keinerlei Einfluß auf die Grundsubstanz der Zonulafasern zu haben.

Diskussion der eigenen Versuche im Vergleich mit denen in der Literatur.

Mit dem Mechanismus der enzymatischen Zonolyse befaßten sich experimentell vor allem J. B a r r a q u e r , O. L i e g l , H. H o f m a n n und F. L e m b e c k , A. P r o p s t und H. H o f m a n n.

Trypsin ist ein organisches Ferment, selbst ein Eiweiß, das den Endopeptidasen zugerechnet wird, da es im Inneren des Eiweißkörpers die Arginin+-Lysin Bindung durch Hydralyse spaltet. Seine Wirkungsweise ist abhängig von optimalen Bedingungen (Temperatur, pH, Konzentration, Dauer der Einwirkung). So ergaben auch unsere Versuche, daß unter anderem bei entsprechender pH Einstellung die Ergebnisse exakter ausfallen. Dies kommt insbesondere in der statistischen Berechnung zum Ausdruck.

1957 wurde von B a r r a q u e r im Anschluß an seine zufällige Entdeckung der zonolytischen Wirkung von α-Chymotrypsin das Ferment zur intracapsulären Kataraktextraktion zum ersten Male eingeführt. Er kam nach experimentellen Versuchen zu dem Ergebnis, daß das Enzym selektiv die Zonulafasern angreife (1958), während die übrigen Gewebsteile

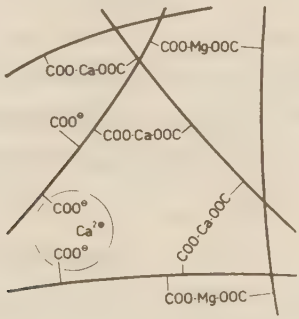
des Augeninneren keine Fermentwirkung aufweisen sollen.

O. L i e g l versuchte dies dadurch zu erklären, daß die Zonulafasern wegen ihrer enorm großen Oberfläche zuerst der Verdauung anheimfallen müssen. Er setzte aber gleichzeitig einen enzymatischen Vorgang in Frage, da ihm die Zeit von 3-5 Minuten, die zur Zonolyse durchschnittlich benötigt wird, für einen hydrolytischen Vorgang zu kurz erschien. Er sah daher, da das Trypsin ebenso eine oberflächenaktive Wirkung hat, ein physikochemisches Problem, das in einer Herabsetzung der Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung bestand.

Da dem Versenat (EDTA = Na-Salz des Äthylendiamintetraacetat = Triplex III, im Handel als Versenat bekannt) unter anderem ebenfalls eine derartige oberflächenaktive Wirkung zukommt, vertrat er die Ansicht, falls dieses eine zonolytische Wirkung entfalte, kann Trypsin nicht fermentativ, sondern nur physikochemisch wirksam sein. So führte er 2 Linsenextraktionen mit Triplex III erfolgreich aus, wodurch seine Vermutung eine gewisse Bestätigung fand.

Im Gegensatz zu der Vorstellung von O. L i e g l verliefen unsere experimentellen Tierversuche mit Versenat völlig negativ. Auch die höchste Konzentration des Substrates erbrachte keine zonolytische Wirkung. Wir gingen allerdings von einem anderen Gesichtspunkt an unsere Versuche. Die eigentliche Wirkung von Versenat ist die eines äußerst wirksamen Ionenaustauschers. Er wird zur Einzelzellherstellung für Gewebekulturen verwandt. Hierbei werden Einzelzellen aus dem Gewebeverband herausgelöst durch die Nutzung der

Eigenschaft dieses Ionenaustauschers. Wir übertrugen nun diese Vorstellung auf die Zonula Zinni und nahmen an, durch den Entzug von Ca-Ionen aus der Kittsubstanz der Zonulafasern müßten letztere sich aus dem Verband lösen und eine Zonolyse bewirken. Eine derartige Vorstellung findet in den neueren Untersuchungen von P. S i t t e eine experimentelle Grundlage. Er konnte zeigen, daß die Kittsubstanz durch Ca-Ionen-Brücken stabilisiert erscheint.



Verknüpfung von Polysaccharid-Ketten durch Ca^{2+} und Mg^{2+}; im Kreis Bildung eines "Haftpunktes".

Nachdem aber diese Kittsubstanz ein wesentlich weniger wirksamer Ionenaustauscher darstellt (B u d d e c k e) als das Na-Salz von Versenat, hätte nach Zugabe des Versenats die Brückenbildung aufgehoben werden und ein Zerfall der Kittsubstanz eintreten müssen. Daß dieses in unserem Experiment nicht eintrat, erscheint durch folgende Beobach-

tung bewiesen zu sein: Läßt man das Na-Salz von Versenat zunächst auf die Zonula über eine Zeitdauer bis zu einer Stunde einwirken, so tritt nach Zugabe von Trypsin nur dann eine Zonolyse ein, wenn die Aufhängefasern der Linse zuvor angespannt wurden.

Somit läßt sich einwandfrei aussagen, daß dieser sehr wirksame Ionenaustauscher keinen nachweisbaren Einfluß auf die Kittsubstanz und auf den Ablauf der fermentativen Zonolyse nimmt. Gleichzeitig haben wir dadurch die physiko-chemische Theorie von O. L i e g l widerlegt.

Weshalb aber Versenat als sehr wirksamer Ionenaustauscher keine Wirkung entfaltete, kann möglicherweise durch eine chemische Analyse der Kittsubstanz eine Erklärung finden.

J. F u c h s , D. H i l l , H. H o f m a n n und F. L e m b e c k , W. R o h r s c h n e i d e r und H. F r i e d r i c h , E. W a l s e r u.a. erkannten bald, daß im Gegensatz zur ursprünglichen Auffassung von J. B a r r a q u e r Trypsin auch auf das übrige Augengewebe Einfluß nimmt.

H. H o f m a n n und F. L e m b e c k konnten sogar zeigen, daß die Enzymwirkung keinen spezifischen Effekt auf die Zonulafasern ausübe, da isolierte Zonulafasern praktisch nicht abgebaut würden. P r o p s t und H o f m a n n bestätigten diesen experimentellen Befund auch

elektronenoptisch. In den Versuchen am isolierten Auge in situ und auch bei der Operation reißen die Zonulafasern unter bestimmten experimentellen Bedingungen und bei geeigneter Enzymkonzentration innerhalb von Sekunden. Es konnte weiter durch H o f m a n n und L e m b e c k gefunden werden, daß die Wirkung des Enzyms erst an der gespannten Faser eintritt, d.h. daß gleichzeitig eine Spannung vorliegen muß. Sie vertraten die Ansicht, Trypsin ohne gleichzeitige Spannung sei wirkungslos.

H o f m a n n und Mitarbeiter zogen aus ihren vielfältigen experimentellen Arbeiten den Schluß, daß möglicherweise durch die Dehnung der Zonula Zinni eine intramolekulare Strukturveränderung der Faserproteine auftreten muß und so der Enzymangriff erst ermöglicht wird. Sie erläutern diese Möglichkeit folgendermaßen:

"Entweder erlaubt die intramolekulare Struktur der Fasern im Spannungszustand ein leichtes Einwirken des Enzyms oder es liegen im gespannten Zustand die einzelnen Fasern weiter voneinander getrennt und bieten daher dem Enzym eine größere Angriffsfläche."

Die Voraussetzung für die zonolytische Wirksamkeit sind sind damit gegeben, da die Fasern am Auge in situ oder bei der Operation durch den Druck unter Spannung stehen.

Wir konnten dagegen zeigen, daß eine dauernde Anspannung der Zonula nicht notwendig ist, um das Trypsin zur Wirkung zu bringen. Unsere Versuche führten zu dem Ergebnis, daß eine

einmalige Vorspannung der Zonulafasern ausreicht, um bei nachfolgender Trypsineinwirkung eine vollständige Zonolyse herbeizuführen. Unsere Untersuchungen machen also sehr wahrscheinlich, daß sich bei der sogenannten Zonolyse die eigentliche Wirkung überhaupt nicht an den Zonulafasern selbst entfaltet, wie dies den Experimenten von H. H o f m a n n und Mitarbeitern entspricht. Wir müssen vielmehr annehmen, daß am Einstrahlungsort des Ziliarkörpers die Oberflächenstruktur durch die einmalige Spannung der Fasern derart verändert wird, daß die zonolytisch wirksamen Fermente hier in der Tiefe zu ihrer Wirkung gelangen.

Zusammenfassung:

1) Im Gegensatz zur bisherigen Auffassung wird zur enzymatischen Zonolyse die dauernde Spannung der Zonula Zinni nicht benötigt. Eine einmalige Dehnung vor Beginn des Experimentes genügt, um die Zonolyse mit den entsprechenden Fermenten in Gang zu bringen.

2) Das Na-Salz von EDTA (im Handel als Versenat bekannt= Na-Salz von Äthylendiamintetraacetat) entfaltet keine Wirkung in Bezug auf die Zonolyse und die Kittsubstanz. Die möglichen Ursachen hierfür werden dargelegt.

3) Durch die eindeutige Abhängigkeit des Prozesses von der Einwirkungsdauer, Fermentkonzentration, Temperatur und

pH kann es sich nur um einen enzymatischen Vorgang handeln. Dies findet ihre weitere Stützte in den Versenat-Versuchen. Somit dürfte die Theorie eines physikochemischen Vorganges im Sinne einer Herabsetzung der Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung (O. L i e g l) abzulehnen sein.

Schrifttum:

AAINSLIE, D.: Brit.J.Ophtal.,43,S.200 (1959)

BAILBE,N.: Bull.Soc.Ophtal.Fr.1959,482

BAILBE,N. et CAMO,R.: Bull.Soc.Ophtal.Fr.1959,479

BARRAQUER,J.: Bull.Soc.Ophtal.Fr.1959,551
Proc.roy.Soc.Med.(Lond.) 52,973 (1959)

BARRAQUER,J. et BAILBE, N.:
Bull.Soc.Ophtal.Fr.6,S.567 (1958)

BARRAQUER,J. y RUTLLAN,J.:
Arch.Soc.oftal.hisp.-amer.20,850 (1960)

BARRAQUER,J.: Riv.ital.Tracoma 12,114
Klin.Mbl.Augenhk. 133, 609 (1958)

BATTISTINI,A.Ref: Zbl.ges.Opht. 81,217 (1960/61)

BUDDECKE,E.: Zschr.f.angewandte Chemie 663, 1960

COGAN, J.H.E., SYMONS, H.M. u. GETSBS, D.C.,Ref:
Zbl.ges.Ophthl. 77, 179 (1959)

CASERO, L.: Arch.Soc.oftal.hisp.-amer. 19,301 (1959)

DELTHIL, S. et JULOU,J.: Bull.Soc.Ophtal.Fr.1959,565

DESVIGNES, M.P.: Bull.Soc.Ophtal.Fr.1959,544

DIAIS,F.: Bull.Soc.Ophtal.Fr.,139 (1960)

DOLLFUS,A. et MASSIN,M.,Ref: Zbl.ges.Ophth.80,135(1960)

FANTA,H. und HEROLD,I.:
Verh.österr.ophth.Ges.(1959)
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.136,S. 506 (1960)

FUCHS,J.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.135,S.52 (1959)
Med.Klin. 55,1919 (1960)

GAUFFRE,R.,Ref.: Zbl.ges.Ophth. 78,256 (1959/60)
GIUFFRE,Vincenzo,Ref.: Zbl.ges.Ophth.78,254 (1959/60)

HÄHNEL,R.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.136,S.363(1960)

HILL,D.W.: Brit.J.Ophthal.43,325 (1959)

HIRSCHBERG XIII: Geschichte d.Augenheilkunde d.Mittelalters und der Neuzeit.

HOFMANN,H. u. LEMBECK,F.:
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.134,S.316(1959)

HOFMANN,H. u. PROPST,A.:
v.Graefes Archiv f.Ophthm.Bd.162,S.255 (1960)

HOFMANN,H.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.134,S.532 (1959)

HRUBY,K. u. FUNDER,W.: Verh.österr.ophth.Ges.1959,S.220

HRUBY,K.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.134,S.527 (1959)

KOLLER,S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen.Verlag Th.Steinkopff, Dresden und Leipzig 1940.

LEMBECK,F. u. HOFMANN, H.:
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.135,S.232 (1959)

LIEGL,O.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.132,S.486 (1958)
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.135,S.241 (1959)

MEHREY,M.P. and PAHWA, J.M.:
Ophthalmologica(Basel),140,22 (1960)

MURRAY,R.G. and DRANCE,S.M.:
A.M.A.Arch.Ophthal.63,910 (1960)

ORR,H.C.: Brit.J.Ophthal.43,330 (1959)

RADNOT,M. u.PAJOR,R.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.136,S.370 (1959)

REDI,F., DE ROSA,C. e LASAGNI,F.Ref:
Zbl.ges.Ophth.80,253 (1960)

REMKY,H.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.133,S.616 (1958)

ROHRSCHNEIDER,W.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.135,S.226 (1959)

ROHRSCHNEIDER,W.u.FRIEDRICH,H.:
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.136,S.499 (1960)

ROIG,M.: Maroc méd.39,373 (1960)

SITTE,P.: Umschau, 62.Jahrgang,Heft 8,S.236 (1962)

SKRZYPCZAK,K.E.Ref.: Zbl.ges.Ophth.80,253 (1960)

SLEZAK,H.: Verh.österr.ophtl.Ges.S.216 (1959)

THORPE, H.E.: Amer.J.ophthal.Ser.3,49,531 (1960)
Trans.Amer.ophthal.Soc.57,254 (1960)

TOWNES,C.D.: Arch.Ophthal.(Chicago)64,108 (1960)

WALSER,E.: Klin.Mbl.Augenhk.Bd.133,S.119 (1958)
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.134,S.524 (1959)
Klin.Mbl.Augenhk.Bd.136,S.387 (1960)

ZORAB,E.C.: Brit.J.Ophthal.43,202 (1959)

L e b e n s l a u f

Ich, Gisela M e y t h a l e r , wurde am 17.6.1935 als Tochter des damaligen Privatdozenten Dr.med. Friedrich Meythaler und seiner 1937 verstorbenen Ehefrau Dr.med. Hermine Meythaler geb. Baer, Fachärztin für Kinderheilkunde, in Freiburg i.Brsg. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Tiefenhäusern/Schwarzwald trat ich in das humanistische Gymnasium in Erlangen ein. Die Reifeprüfung legte ich am 24. März 1956 an der Schule Birklehof/Hinterzarten ab.

Sommersemester 1956 Beginn des Medizinstudiums an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen, an der ich am 29.7.1958 die ärztliche Vorprüfung bestand. Im Wintersemester 1961/62 legte ich das med. Staatsexamen ab.

GEDRUCKT BEI LUDWIG MÜLLER ERLANGEN